

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

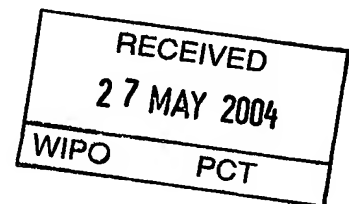
16.1.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 3 年 5 月 2 2 日

出 願 番 号
Application Number: 特願 2 0 0 3 - 1 4 4 4 0 6
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 1 4 4 4 0 6]



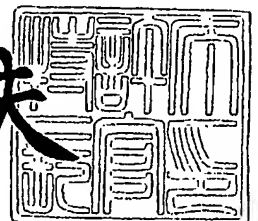
出 願 人
Applicant(s): 橋本 文雄
坂田 祐介

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 5 月 1 4 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 T22580

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A01H 1/02
A01H 5/02

【発明者】

【住所又は居所】 鹿児島市唐湊三丁目 3 1 - 1 - 2 - 6

【氏名】 橋本 文雄

【発明者】

【住所又は居所】 鹿児島市谷山中央四丁目 4 9 1 9 番地 A 3 0 3

【氏名】 坂田 祐介

【特許出願人】

【代表出願人】

【識別番号】 302068210

【氏名又は名称】 橋本 文雄

【特許出願人】

【識別番号】 302068209

【氏名又は名称】 坂田 祐介

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 198684

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 花きの花色遺伝型交配法

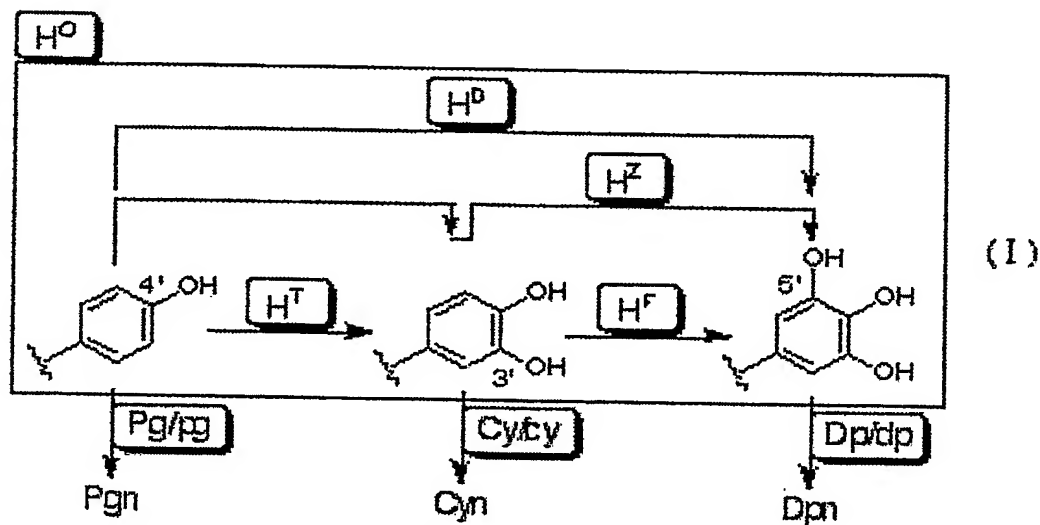
【特許請求の範囲】

【請求項1】 花きの花色発現に関わる主要アントシアニン色素のペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝であって、遺伝型 $H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y / c y \cdot D p / d p$ を用い、新花色を作出する花色遺伝型交配法。

【請求項2】 花きの花色発現に関わる主要アントシアニン色素のペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝並びに花形に関わる八重型、覆輪型の遺伝であって、遺伝型 $D / d \cdot E / e \cdot H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y / c y \cdot D p / d p$ を用い、新花色を作出する花色遺伝型交配法。

【請求項3】 花色遺伝型が経路式 (I) のフラボノイド生合成に関与し、遺伝する請求項1記載の花色遺伝型交配法。

【化1】



(ここで、 H^T 、 H^F 、 H^D 、 H^Z 、 H^O は、フラボノイド生合成の前駆物質でのB環の水酸化に関する複対立遺伝子を表す。 H^T 、 H^F 、 H^D 、 H^Z 、 H^O の5つの複対立遺伝子は、フラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ ($F 3' H$) とフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ ($F 3', 5' H$) の、それぞれ3'位の水酸化、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、および3'位

と 3'、5' 位の水酸化を制御する。この 5 つの複対立遺伝子の表記方法は、例えば、T、F、D、Z、O など他の表記法でもよい。P g / p g、C y / c y および D p / d p は、P g n、C y n、D p n の生合成に参与するジヒドロフラボノールリダクターゼ (DFR)、あるいはアントシアニンシンターゼ (LDOX または AS) の発現に対立する遺伝子座がそれぞれに存在することを示し、D / d は八重の花冠形質、E / e は覆輪の花冠形質を示す。)

【請求項 4】 花きの花色がフラボノイド生合成過程で遺伝する請求項 1 ~ 請求項 3 に記載の花色遺伝型交配法。

【請求項 5】 花きの花色が母性遺伝する請求項 1 ~ 請求項 4 のいずれかに記載の花色遺伝型交配法。

【請求項 6】 花色を作出する花色遺伝型交配の組み合わせを決定するものであって、花粉親の配偶子を行とし、種子親の配偶子を列とする、請求項 1 ~ 請求項 5 のいずれかに記載の複対立遺伝子の組合せ早見表。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】

本発明は、花色遺伝型を適用した花きの新花色育種法に関する。

【0002】

【従来の技術】

アントシアニン類はフラボノイド化合物の一種であり、植物の花、果実、葉などに広く存在し、赤、紫、青などの呈色に関係する色素配糖体である。アントシアニン類を塩酸で加水分解すると、糖部とアグリコン部であるアントシアニンに分解される (非特許文献 1、村上孝夫：天然物の構造と化学、廣川書店、1984 年 9 月：170-172)。

【0003】

フラボノール配糖体 (flavonol glycoside) 類はフラボノイド化合物 (flavonoid) の一種であり、植物の花、果実、葉などに広く存在し、黄色に呈色する色素配糖体である。フラボノール配糖体類を塩酸で加水分解すると、糖部 (sugar) とアグリコン部 (aglycone) である

フラボノールに分解される（非特許文献2、村上孝夫：天然物の構造と化学、廣川書店、1984年9月：155-185）。

【0004】

アントシアニジン (anthocyanidin) 類は、植物の花において、フラバノン (flavanone) であるナリンゲニン (naringenin) を出発物質として生合成される。即ち、まずフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ (flavonoid 3'-hydroxylase, F3', 5'HまたはF3'H) の作用によりフラバノン骨格のB環に水酸基が更に1個結合したエリオディクチオール (eriodictyol)、更に2個結合したペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) へ酵素変換されることが知られている。また、出発物質であるナリンゲニンが、フラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ (flavonoid 3'-hydroxylase, F3H) の作用を受けジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol) へ酵素変換され、これが基質となって、更にフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼの作用を受け、B環に水酸基が更に1個結合したジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin)、更に2個結合したジヒドロミリセチン (dihydroquercetin) へ酵素変換されることが知られている。この3種のジヒドロフラボノール (dihydrokaempferol、dihydroquercetin、dihydromyricetin) がジヒドロフラボノールリダクターゼ (dihydroflavonol reductase, DFR) およびアントシアニジンシンターゼ (anthocyanidin synthase, LDOXまたはAS) の作用を受けて、それぞれペラルゴニジン (pelargonidin, Pgn)、シアニジン (cyanidin, Cyn)、デルフィニジン (delphinidin, Dpn) へ酵素変換されることが知られている（非特許文献2）。

【0005】

アントシアニジン類は、B環の水酸基が異なることでその呈色が決定される。例えば、一般に花色素で化学構造中、B環の4'位に水酸基が一個有るものはペラルゴニジン (Pgn) でオレンジ色～朱赤色を呈し、B環の3'、4'位に水酸

基が二個有るものはシアニジン (Cyn) で赤色～深紅色を呈し、B環の3'、4'、5'位に水酸基が三個有るものはデルフィニジン (Dpn) で赤紫色～紫色を呈し、これらが共存することによって様々な花色を発現する (非特許文献3、本多利雄他: 現代化学、1998年5月: 25-32)。

【0006】

これらの他、種々のアシル基の結合したアントシアニン類 (anthocyanin) も多数報告され、これらが分子間で互いにスタッキングして花色が変調する現象 (分子間自己会合作用)、他の黄色フラボノイド配糖体類とサンドイッチ状にスタッキング (stacking) して花色が変調 (青色化) する現象 (分子間コピグメント作用、intermolecular copigment)、金属原子と結合することによって花色が変調 (青色化) する現象 (金属錯体イオン形成作用、metal-complexation)、分子中のアシル基等が分子内でスタッキングして花色が変調 (青色化) する現象 (分子内コピグメント作用、intramolecular copigment)、並びに細胞液胞内pHが変化する現象などで花色が決定されることが認められている (非特許文献4、Goto, T. et al.: Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 30: 17-33, 1991)。

【0007】

植物の花色遺伝は、花色自体 (赤、青、黄、紫など) を遺伝子型として捉えたものが多く報告されている (非特許文献5、安田 齊: 花色の生理・生化学、内田老鶴圃: pp 219-272)。近年、フラボノイド色素に関する花色遺伝型の解析が試みられているが、これらはビール (Beale, 1945) の唱えた1遺伝子1酵素説 (one gene-one enzyme theory) に基づくものである。その例として、ゼラニウム (*Pelargonium hortorum*) 花卉のアントシアニン生合成における、ジヒドロフラボノールリダクターゼ (DFR) およびアントシアニンシンターゼ (LDOXまたはAS) の酵素系をそれぞれE₁/e₁およびE₂/e₂と表記し、遺伝子型を想定した方法がある (非特許文献6、小林加奈: 育種学雑誌、48: 169-176, 1998)。

【0008】

また、ペチュニア (*Petunia*) の花では、 Ht_1 と Ht_2 の2遺伝子がフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ ($F3'H$) を、 Hf_1 と Hf_2 の2遺伝子がフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ ($F3'$ 、 $5'H$) を制御すると報告されている (非特許文献7、Holton、T. A. et al. : *The Plant Cell*、7:1071-1083、1995)。

【0009】

更に、ペチュニアの花では、フラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ ($F3'H$) とフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ ($F3'$ 、 $5'H$) のB環の水酸化が二遺伝子支配を受けているとの記載がある (非特許文献8、Holton、T. A. et al. : *Nature*、366:276-279)。本発明による花色遺伝型交配法では、一遺伝子の支配下にある五つの複対立遺伝子で花色が制御されていることが特徴で、花きの花色素遺伝は、二遺伝子支配としては同定できなかった。

【0010】

更にまた、ペチュニアの花では、遺伝子レベルでそれぞれの2遺伝子座が (Ht_1 、 Ht_2 はフラボノイドB環の3'位の水酸化に関与し、 Hf_1 、 Hf_2 はフラボノイドB環の5'位の水酸化に) 関与する事実を明らかにしたものの、色素遺伝型として後代にどのような花色が遺伝するのか、必ずしも色素遺伝型と花色の遺伝に相関性が認められなかったなどの問題点がある (非特許文献9、Griesbach、R. J. : *J. Heredit.*、87:241-245、1996)。

【0011】

花色は、光が花卉表面にあたり、花卉表皮細胞内に存在する色素類に吸収されなかった光が反射されることにより、人間の目に感知される。しかし、光、または色彩に対する感受性に個人差があるために、花色を明確に表現する手法が必要であるとされてきた (非特許文献10、Voss、D. H. : *Hort Sci.*、27:1256-1260、1992)。

【0012】

花色 (flower color) は、色彩計、または、色差計 (colorimeter) による CIE Lab 表色系を用いた測定方法が主流となってきた。これは、色の三属性 (color attribute)、すなわち、色相 (hue)、明度 (brightness)、彩度 (chroma) を三次元の立体空間座標系 (three dimensional global color chart)、つまり、色立体として考えたもので、本空間中の色差 (hue difference) は、肉眼で感知した色の差を正確に反映する (非特許文献11、Gonnet、J. F. : Food Chem.、63:409-415、1998)。したがって、花色を測定、つまり測色して、花卉などの表皮細胞中の内生色素との関係を求める場合には、花色との関係をより正確に求めることができるなどの報告がある (非特許文献12、Hashimoto、F. et al. : J. Soc. Hort. Sci.、69:428-434、2000; 非特許文献13、Hashimoto、F. et al. : Biosci. Biotechnol. Biochem.、2002年、第66巻、P. 1652-1659)。

【0013】

その他、特開平5-184370号 (以下、特許文献1という) に、フラボノイド水酸化酵素遺伝子 (特許文献1の第0001~0002段落) の記載がある。「フラボノイド3'、5'-水酸化酵素活性を持つタンパク質をコードしているDNA鎖またはこのDNA鎖の任意の断片が提供される。このDNA鎖を目的植物に導入することにより、新しい色彩を有した品種を作出することができる。また本発明は、上記のDNA鎖またはこのDNA鎖の任意の断片を含有している組換えベクターにも関する」という記載がある (特許文献1の第0004段落)。特開平10-113184号 (以下、特許文献2という) には、フラボノイド配糖化酵素遺伝子 (特許文献2の第0001~0008段落) の記載がある。「リンドウの花弁よりUDP-グルコース:フラボノイド3, 5-O-グルコシルトランスフェラーゼ遺伝子を単離し、その配列決定をすることに成功し」、「ゲンチオデルフィン生合成遺伝子のうち、3位、5位の2位を配糖化しうる糖転移酵素遺伝子を提供することにある。」という記載がある (特許文献1の第0005

段落)。

特開平11-509733号(以下、特許文献3という)には、植物における遺伝子発現調節のための組成物及び方法に関する特許請求の範囲1~15の記載がある。

第26回国際園芸学会議(トロント、カナダ)の講演要旨には、トルコギキョウ花卉中の3種の主要アントシアニジンの遺伝の記載がある(非特許文献14、Uddin, A. F. M. J. : the XXVIth International Horticultural Congress and Exhibition, 2002年、August 11-17, P. 475-476)。

この内容を、特願2003-026598号(以下、特許文献4という)として出願し、トルコギキョウの花色遺伝型交配法(特許文献4の第0001~0019段落)と記載した。「トルコギキョウの主要花色素である、3つのアントシアニン:ペラルゴニン(Pgn)、シアニン(Cyn)、デルフィニン(Dpn)の遺伝に着目し、自殖や正逆交雑を行い検討した結果、F₁~F₃世代の色素表現型の分離から、新しい遺伝の法則を見出した。」、「色素前駆体のB環の水酸化に関与するフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ(F3'H)とフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ(F3'、5'H)の酵素反応系には、HT、HF、HD、HOの4つの複対立遺伝子が存在し、これらが3'位の水酸化、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、および3'位と3'、5'位の水酸化を制御し、」という記載がある。

このように、複対立遺伝子については、その全容がまだ解明される必要があった。また、四つの複対立遺伝子の存在を明らかにできたものの、遺伝される花色との関係についての記載はなく、複対立遺伝子の存在をすべて明らかにすると共に、花色発現をも明らかにする必要があった。

【0014】

【特許文献1】

特開平5-184370号公報(第2頁、第14頁、図2)

【特許文献2】

特開平10-113184号公報(第2頁)

【特許文献3】

特開平11-509733号公報(第2頁)

【特許文献4】

特願2003-026598号

【非特許文献1】

村上孝夫、「アントシアニン誘導体」、天然物の構造と化学、廣川書店、1984年9月、P. 170-172。

【非特許文献2】

村上孝夫、「フラボノイド」、天然物の構造と化学、廣川書店、1984年9月、P. 155-185。

【非特許文献3】

本多利雄と斉藤規夫、「花の色の科学」、現代化学、東京化学同人、1998年5月、P. 25-32。

【非特許文献4】

Goto, T. とKondo, T.、「Structure and Molecular Stacking of Anthocyanins- Flower Color Variation」、Angew. Chem. Int. Ed. Engl.、1991年、第30巻、P. 17-33。

【非特許文献5】

安田 齊、「花色の遺伝生化学」、花色の生理・生化学、内田老鶴園、1993年3月、P. 219-272。

【非特許文献6】

小林加奈、他2名、「ゼラニウムにおける紫色花作出のための遺伝様式の解明」、育種学雑誌、1998年、第48巻、P. 169-176。

【非特許文献7】

Holton, T. A. とCornish, E. C.、「Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis」、The Plant Cell、1995年、第7巻、P. 1071-1083。

【非特許文献8】

Holton、T. A.、他9名、「Cloning and Expression of Cytochrome P450 Genes Controlling Flower Colour」、Nature、1993年、第366巻、P. 276-279。

【非特許文献9】

Griesbach、R. J.、「The Inheritance of Flower Color in *Petunia hybrida* Vilm」、J. Heredit.、1996年、第87巻、P. 241-245。

【非特許文献10】

Voss、D. H.、「Colorimeter Measurement of Plant Color to the Royal Horticultural Society Colour Chart」、HortSci.、1992年、第27巻、P. 1256-1260。Gonnet、J. F. : Food Chem.、63:409-415、1998。

【非特許文献11】

Gonnet、J. F.、「Color Effects on Copigmentation of Anthocyanins revisited . 1. A Colorimetric Definition Using the CIELAB Scale」、Food Chem.、1998年、第63巻、P. 409-415。

【非特許文献12】

Hashimoto、F.、他4名、「Characterization of Cyanic Flower Color of *Delphinium* Cultivars」、J. Soc. Hort. Sci.、2000年、第69巻、P. 428-434。

【非特許文献13】

Hashimoto、F.、他5名、「Changes of Flower Coloration and Sepal Anthocyanins o

f Cyanic Delphinium Cultivars during Flowering」、Biosci. Biotechnol. Biochem.、2002年、第66巻、P. 1652-1659。

【非特許文献14】

Uddin、A. F. M. J.、他2名、「Inheritance Model of Three Major Anthocyanidins in Eustoma grandiflorum Cultivars」、On-Site Program、the XXVth International Horticultural Congress and Exhibition、Toronto、Canada、2002年、August 11-17、P. 475-476 (S19-P-19)。

【0015】

【発明が解決しようとする課題】

花色自体の遺伝子型育種法では後代花色の分離に曖昧なところが多く、実用化することに沢山の問題点を残した。また、非特許文献6に記載のある、 E_1/e_1 および E_2/e_2 で表されたゼラニウム花色素の遺伝についても、後代の分離比に疑問点があり、実用化には至らなかった。特許文献においては、遺伝子組み替え、照射などによる突然変異を起こさせなければ、新花色を作出することができないという問題がある。

【0016】

さらに、遺伝した個体がどのような花色を有するか予測することが困難であって、その花色も肉眼による曖昧な色であり、問題がある。また、トルコギキョウではできたもののすべての花きに適用できるかどうか、CIELab表色系などを用いて花色を正確に測色・数値化し、遺伝させることが十分ではなかったという問題点もある。

【0017】

本発明は、花色素生合成の遺伝を明らかにし、花きの花色をCIELab表色系などを用いて花色を正確に測色・数値化した上で、その色素遺伝型と花色遺伝の関係を明らかにし、花きの新花色作出について実用的花色遺伝型交配法を提供

するものである。

【0018】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の課題を解決するために、フラボノイド生合成のB環の水酸化に関するフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ (F 3' H) やフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ (F 3'、5' H)、などの遺伝に着目し、その遺伝の分離を調べた結果、ペラルゴニジン、シアニジン、デルフィニジンの生合成に与するジヒドロフラボノールリダクターゼ (DFR) およびアントシアニンシンターゼ (LD OXまたはAS) の酵素系の遺伝が、それぞれP g / p g、C y / c y、D p / d pの遺伝子によって制御されていることと併せて、フラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ (F 3' H) やフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ (F 3'、5' H) の遺伝が五つの複対立遺伝子によって制御されているという新しい法則を見出し、結果として、遺伝子組み替え、放射線等照射などによる突然変異を起こさせる方法を用いなくても、花きの色素遺伝型からその花色を自由に創成できる。すなわち、

【0019】

本発明は、花きの主要花色素である、3つのアントシアニン：ペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝に着目し、自殖や正逆交雑を行い検討した結果、F₁～F₄世代の色素表現型の分離から、遺伝の新しい法則を見出した。また、P g nとD p n色素型について、P g nとD p n色素は共存しないで、両者はそれぞれ単独型として認められるか、または、C y n色素を伴うことで遺伝することを見出した。後代実生の分離とカイ二乗検定の結果、P g n、C y n、およびD p n色素の遺伝にはフラボノイド生合成におけるアントシアニン生合成レベルで、P g / p g、C y / c y、D p / d pとして示される遺伝子座が、それぞれに存在することを見出した。

【0020】

さらに、色素前駆体のB環の水酸化に与するフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ (F 3' H) とフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ (F 3'、5' H) の酵素反応系には、H T、H F、H D、H Z、H Oの5つの複対立遺伝子が存在

し、これらが3'位の水酸化、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、および3'位と3'、5'位の水酸化を制御し、これらの組合せによって花色表現型が決定されることを見出し、本発明を完成した。

【0021】

本発明の花色素遺伝型交配法は、花きの花色発現に関わる主要アントシアニン色素のペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝であって、遺伝型 $H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y / c y \cdot D p / d p$ を用い、新花色を作出するものである。

【0022】

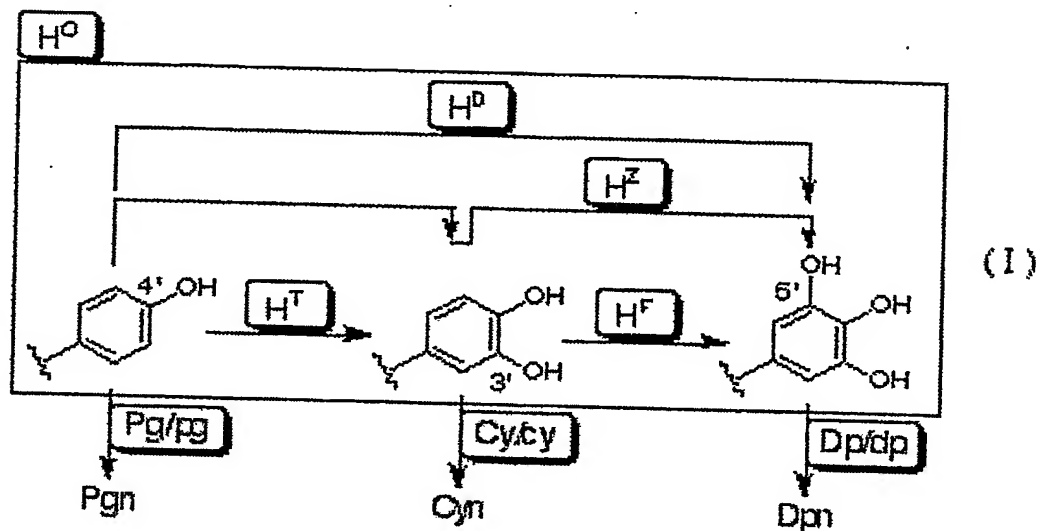
本発明の花色素遺伝型交配法は、花きの花色、植物の果色、葉の色がフラボノイド生合成過程で遺伝するものに適用することができる。即ち、花きの花色発現に関わる主要アントシアニン色素のペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝並びに花形に関わる八重型、覆輪型の遺伝であって、遺伝型 $D / d \cdot E / e \cdot H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y / c y \cdot D p / d p$ を用い、新花色を作出する花色素遺伝型交配法である。花きの花色発現に関わる主要アントシアニン色素のペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝について、P g n、C y n、D p n 色素の遺伝子座をそれぞれ $P g / p g$ 、 $C y / c y$ 、 $D p / d p$ として示し、フラボノイド色素前駆体のB環の水酸化に関与するフラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ (F 3' H) とフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ (F 3'、5' H) の酵素反応系の遺伝型を、H T、H F、H D、H Z、H Oの5つの複対立遺伝子で示し、 $P g / p g$ の記号の内二つを選択し ($P g P g$ 、 $P g p g$ 、 $p g p g$ の組合せ記号の内一つを選択し)、 $C y / C y$ の記号の内二つを選択し ($C y c y$ 、 $C y c y$ 、 $c y c y$ の組合せ記号の内一つを選択し)、 $D p / D p$ の記号の内二つを選択し ($D p D p$ 、 $D p d p$ 、 $d p d p$ の組合せ記号の内一つを選択し)、また、H T、H F、H D、H Z、H Oの記号の内二つを選択し (H T H T、H T H F、H T H D、H T H Z、H T H O、H F H F、H D H F、H Z H F、H O H F、H D H D、H D H Z、H D H O、H Z H O、H O H Oの組合せ記号の内一つを選択し)、すなわち、遺伝型 $D / d \cdot E / e \cdot H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y$

／cy・Dp／dpである方法を用いた新花色を創成する花色遺伝型交配法である。

【0023】

本発明の花色遺伝型交配法は、花色遺伝型が経路式(I)のフラボノイド生合成に関与し、遺伝するものも含まれる。

【化2】



(ここで、H^T、H^F、H^D、H^Z、H^Oは、フラボノイド生合成の前駆物質でのB環の水酸化に関する複対立遺伝子を表す。H^T、H^F、H^D、H^Z、H^Oの5つの複対立遺伝子は、フラボノイド3'-ヒドロキシラーゼ(F3'H)とフラボノイド3'、5'-ヒドロキシラーゼ(F3',5'H)の、それぞれ3'位の水酸化、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、3'、5'位の水酸化、および3'位と3'、5'位の水酸化を制御する。この5つの複対立遺伝子の表記方法は、例えば、T、F、D、Z、Oなど他の表記法でもよい。Pg/pg、Cy/cyおよびDp/dpは、Pgn、Cyn、Dpnの生合成に関与するジヒドロフラボノールリダクターゼ(DFR)、あるいはアントシアニンシンターゼ(LDOXまたはAS)の発現に対立する遺伝子座がそれぞれに存在することを示し、D/dは八重の花冠形質、E/eは覆輪の花冠形質を示す。)

【0024】

本発明の花色遺伝型交配法は、花きの花色が母性遺伝する前記の方法である。より詳しくは、本発明の花色遺伝型交配法は、花きの花色が母性遺伝し、花きの

花色発現に関わる主要アントシアニン色素のペラルゴニン (P g n)、シアニン (C y n)、デルフィニン (D p n) の遺伝並びに花形に関わる八重型、覆輪型の遺伝であって、遺伝型 $D/d \cdot E/e \cdot H^X H^X \cdot P g/pg \cdot C y/cy \cdot Dp/dp$ を用い、新花色を作出する花色遺伝型交配法である。

【0025】

本発明の早見表は、花色を作出する花色遺伝型交配の組み合わせを決定するものであって、花粉親の配偶子を行とし、種子親の配偶子を列とする、上記に記載の複対立遺伝子の組合せを表示するものである。

本発明の早見表は、複対立遺伝子の組合せに対応する色素表現型をも表示するものである。

【0026】

本発明の花きとは、フラボノイドを含む花、果実、種子、葉、すなわち、フラボノイドを含む花卉、萼片、苞、花被、果皮、種皮、葉柄などを有する顕花植物の被子植物門 (Angiospermae) であり、被子植物門として双子葉植物綱 (Dicotyledoneae)、単子葉植物綱 (Monocotyledoneae) に関する。

双子葉植物綱の合弁花亜綱 (Sympetalae) の花きとして、例えば、キキョウ目 (Campanulatae) (キク科 (Compositae)、ステイリディウム科 (Stylidiaceae)、クサトベラ科 (Goodeniaceae)、キキョウ科 (Campanulaceae))、ウリ目 (Cucurbitales) (ウリ科 (Cucurbitaceae))、アカネ目 (Rubiales) (マツムシソウ科 (Dipsacaceae)、オミナエシ科 (Valerianaceae)、スイカズラ科 (Caprifoliaceae)、アカネ科 (Rubiaceae))、シソ目 (Tubiflorae) (キツネノマゴ科 (Acanthaceae)、タヌキモ科 (Lentibulariaceae)、イワタバコ科 (Gesneriaceae)、ツノゴマ科 (Martyniaceae)、ゴマ科 (Pedaliaceae)、ノウゼンカズラ科 (Bignoniaceae)、ゴマノハグサ科 (Scrophulariaceae)、ナス科 (Solanaceae)、シソ科 (Labiata

e)、クマツヅラ科 (Verbenaceae)、ムラサキ科 (Boraginaceae)、ハゼリソウ科 (Hydrophyllaceae)、ハナシノブ科 (Polemoniaceae)、ヒルガオ科 (Convolvulaceae)、モクセイ目 (Contortae) (ガガイモ科 (Asclepiadaceae)、キョウチクトウ科 (Apocynaceae)、リンドウ科 (Gentianaceae)、フジウツギ科 (Loganiaceae)、モクセイ科 (Oleaceae))、イソマツ目 (Plumbaginales) (イソマツ科 (Plumbaginaceae))、サクラソウ目 (Primulales) (サクラソウ科 (Primulaceae)、ヤブコウジ科 (Myrsinaceae))、ツツジ目 (Ericales) (ツツジ科 (Ericaceae)、イチヤクソウ科 (Pyrolaceae))、イワウメ目 (Diapensiales) (イワウメ科 (Diapensiaceae))、である。双子葉植物綱の離弁花亜綱 (Archichlamydeae) の花きとして、例えば、テンニンカ目 (Myrtiflorae) (アカバナ科 (Onagraceae)、ノボタン科 (Melastomataceae)、フトモモ科 (Myrtaceae)、シクンシ科 (Combretaceae)、ザクロ科 (Punicaceae)、ミソハギ科 (Lythraceae)、グミ科 (Elaeagnaceae)、ジンチョウゲ科 (Thymelaeaceae))、ツバキ目 (Parietales) (シュウカイドウ科 (Begoniaceae)、トケイソウ科 (Passifloraceae)、ハンニチバナ科 (Cistaceae)、スミレ科 (Violaceae)、ツバキ科 (Camelliaceae))、アオイ目 (Malvales) (アオイ科 (Malvaceae)、ホルトノキ科 (Elaeocarpaceae))、クロウメモドキ目 (Rhamnales) (ブドウ科 (Vitaceae)、クロウメモドキ科 (Rhamnaceae))、ムクロジ目 (Sapindales) (ツリフネソウ科 (Balsaminaceae)、トチノキ科 (Hippocastanaceae)、カエデ科 (Aceraceae)、ニシキギ科 (Celastraceae)、モチノキ科 (Aquifoliaceae)、ウルシ科 (Anacardiaceae))、フウロソウ目 (Geraniales) (トウダイグサ

科 (Euphorbiaceae)、ヒメハギ科 (Polygalaceae)、ミカン科 (Rutaceae)、アマ科 (Linaceae)、フウロソウ科 (Geraniaceae)、カタバミ科 (Oxalidaceae))、バラ目 (Rosales) (マメ科 (Leguminosae)、バラ科 (Rosaceae)、マンサク科 (Hamamelidaceae)、トベラ科 (Pittosporaceae)、ユキノシタ科 (Saxifragaceae)、ベンケイソウ科 (Crassulaceae))、サラセニア目 (Sarraceniales) (サラセニア科 (Sarraceniaceae)、ウツボカズラ科 (Nepenthaceae)、モウセンゴケ科 (Droseraceae))、ケシ目 (Papaverales) (アブラナ科 (Brassicaceae)、フウチヨウソウ科 (Capparidaceae)、ケシ科 (Papaveraceae))、キンポウゲ目 (Ranunculales) (クスノキ科 (Lauraceae)、メギ科 (Berberidaceae)、キンポウゲ科 (Ranunculaceae)、アケビ科 (Lardizabalaceae)、スイレン科 (Nymphaeaceae)、バンレイシ科 (Annonaceae)、モクレン科 (Magnoliaceae))、アカザ目 (Centrospermae) (ナデシコ科 (Caryophyllaceae)、オシロイバナ科 (Nyctaginaceae))、タデ目 (Polygonales) (タデ科 (Polygonaceae))、イラクサ目 (Urticales) (クワ科 (Moraceae))、ヤマモモ目 (Myricales) (ヤマモモ科 (Myricaceae))、である。

単子葉植物網の花きとして、例えば、ラン目 (Orchidales) (ラン科 (Orchidaceae))、ショウガ目 (Scitamineae) (カンナ科 (Cannaceae)、ショウガ科 (Zingiberaceae)、バショウ科 (Musaceae))、ユリ目 (Liliiflorae) (アヤメ科 (Iridaceae)、ヒガンバナ科 (Amaryllidaceae)、ユリ科 (Liliaceae))、ツユクサ目 (Commelinales) (ミズアオイ科 (Pontederiaceae)、ツユクサ科 (Commelinaceae)、パイナップル科 (Bromeliaceae)、サトイモ目 (A

rales) (サトイモ科 (Araceae))、である。

【0027】

【発明の実施の形態】

本発明の花色遺伝型交配法とは、該アントシアニン類に関する遺伝型育種法であって、かつフラボノイド生合成における前駆化合物のB環の水酸化に五つの複対立遺伝子で表記することのできる花色素遺伝型交配法である。

【0028】

本発明において、花きのアントシアニン生合成の前駆化合物生成について、複対立遺伝子の組合せが、H^TH^F、H^TH^D、H^TH^ZとH^O-の場合、B環の水酸基が1～3個有する六種の前駆化合物 (ナリンゲニン (naringenin)、エリオディクチオール (eriodictyol)、ペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone)、ジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol)、ジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin)、ジヒドロミリセチン (dihydromyricetin)) を生成し、H^TH^Tの場合、B環の水酸基が1個と2個を有する四種類の前駆化合物 (ナリンゲニン (naringenin)、エリオディクチオール (eriodictyol)、ジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol)、ジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin)) を生成し、H^FH^Fの場合、B環の水酸基を1個有する二種の前駆化合物 (ナリンゲニン (naringenin)、ジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol)) を生成し、H^DH^FとH^DH^Dの場合、B環の水酸基を3個有する二種の前駆化合物 (ペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone)、ジヒドロミリセチン (dihydromyricetin)) を生成し、H^DH^Z、H^ZH^Zの場合、B環の水酸基が3個有する二種の前駆化合物 (ペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone)、ジヒドロミリセチン (dihydromyricetin)) を生成する。更に、anthocyanin synthase生合成レベルにあるP_g/p_gの遺伝子座のため、劣性ホモ型 (p_gp_g) を形成した場合には、前駆化合物として、ナリンゲニン (naringeni

n) およびジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol) を生成しても Pgn を生合成しない。HZHF の場合、B 環の水酸基を 2~3 個有する四種の前駆化合物 (エリオディクティオール (eriodictyol)、ペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone)、ジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin)、ジヒドロミリセチン (dihydromyricetin)) を生成する。

【0029】

すなわち、HT の対立遺伝子は、ナリンゲニン (naringenin) からエリオディクティオール (eriodictyol) 並びにジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol) からジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin) への生化学的変換を制御し、HF の対立遺伝子は、エリオディクティオール (eriodictyol) からペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) 並びにジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin) からジヒドロミリセチン (dihydromyricetin) への生化学的変換を制御する。従って、HF の対立遺伝子は、エリオディクティオール (eriodictyol) やジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin) の前駆化合物が存在しなければ生化学的変換は行われぬ。一方、HD の対立遺伝子は、ナリンゲニン (naringenin) からペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) 並びにジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol) からジヒドロミリセチン (dihydromyricetin) への生化学的変換を制御するが、この対立遺伝子は、基質を完全にペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) またはジヒドロミリセチン (dihydromyricetin) へ変換することが特徴である。更に、HZ の対立遺伝子は、ナリンゲニン (naringenin) からペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) 並びにジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol) からジヒドロミリセチン (dihydromyricetin) への生化学的変換を制御するが、この対立遺伝子は、一旦基質を完全にエリオディクティオール

(eriodictyol) および、ジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin) へ変換し、更にこれらをペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) および、ジヒドロミリセチン (dihydromyricetin) へ変換することが特徴である。従って、HFの対立遺伝子と対を組んだ場合、中間体であるエリオディクティオール (eriodictyol) および、ジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin) が基質として奪われ、H^ZH^Fの遺伝型では、結果としてB環の水酸基を2～3個有する四種の前駆化合物 (エリオディクティオール (eriodictyol)、ペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone)、ジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin)、ジヒドロミリセチン (dihydromyricetin)) を生成する。

【0030】

従って、H^DH^D型、H^DH^F型、H^DH^Z型、H^ZH^F型、H^ZH^Z型の場合、Pg/pgが優性型 (PgPgまたはPgpg) であっても、Pgnは生成されない。HOの対立遺伝子は、ナリングニン (naringenin) からエリオディクティオール (eriodictyol) とペンタヒドロキシフラバノン (pentahydroxyflavanone) 並びにジヒドロケンフェロール (dihydrokaempferol) からジヒドロクエルセチン (dihydroquercetin) とジヒドロミリセチン (dihydromyricetin) への全ての生化学的変換を制御する。HOの対立遺伝子は、他の四つの対立遺伝子群 (H^T、H^F、H^D、H^Z) に対して、調節的な役割を演じる調節遺伝子である。

【0031】

本発明において、例えば、トルコギキョウ花卉の色素遺伝型について、H^TH^FPg-CyCyDpDp、H^TH^DPg-CyCyDpDp、H^TH^ZPg-CyCyDpDpとH^O-Pg-CyCyDpDpの遺伝型でPgnCynDpn型を得ることができる。H^TH^TPg-CyCyDpDpでPgnCyn型を得ることができる。H^TH^FpgpgCyCyDpDp、H^TH^DpgpgCyCyDpDp、H^TH^ZpgpgCyCyDpDpとH^O-pgpgCyCyD

pDpでCynDpn型を得ることができる。H^FH^FPg-CyCyDpDpでPg型を得ることができる。H^TH^TPgpPgCyCyDpDpでCyn型を得ることができる。H^DH^F—CyCyDpDp、H^DH^Z—CyCyDpDpとH^DH^D—CyCyDpDpでDpn型を得ることができる。H^FH^FPgpPgCyCyDpDpで白花を得ることができる。また、Dpn型の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (malvidin, Mv) とペチュニジン (petunidin, Pt) を含む場合がある。更に、Cyn型の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (peonidin, Pn) を含む場合がある。ここで「白花」とは、アントシアニンを全く含まない花のことを指す。なお、本発明では、Pg nDpn型は得られない。また、“—” と表記されているのは、その一つ前に表記された遺伝型に優性的に支配されていることを示し、いずれの遺伝型でも用いることができることを意味する。更にまた、“—” と表記されているのは、いずれの遺伝型も用いることができることを意味する。

【0032】

本発明において、例えば、トルコギキョウ花卉の色素表現型について、Pg nCynDpn型で、赤紫色、赤色、紫赤色、淡赤色、ピンク色の花を得ることができる。Pg nCyn型で、赤色、深赤色、淡赤色、ピンク色の花を得ることができる。CynDpn型で、淡紫色、紫赤色、紫色、青紫色の花を得ることができる。Pg n型で、赤色、淡赤色、ピンク色、白赤色、クリーム色、白色の花を得ることができる。Cyn型で、赤色、淡赤色、ピンク色、白赤色の花を得ることができる。Dpn型で、紫色を得ることができる。None型 (H^FH^FPgpPgCyCyDpDpの遺伝型) で白花を得ることができる。

【0033】

本発明において、例えば、スイートピー花卉の色素遺伝型について、H^TH^TPg-CyCyDpDpでPg nCyn型を得ることができる。H^TH^FPgpPgCyCyDpDp、H^TH^DPgpPgCyCyDpDpとH^O-PgpPgCyCyDpDpでCynDpn型を得ることができる。H^TH^TPgpPgCyCyDpDpでCyn型を得ることができる。H^DH^F—CyCyDpDpとH^D

$H^D - - C y C y D p D p$ で $D p n$ 型を得ることができる。 $H^F H^F p g p g C y C y D p D p$ で白花を得ることができる。ここで「白花」とは、アントシアニジンを全く含まない花のことを指す。なお、本発明では、 $P g n D p n$ 型は得られない。また、“-”と表記されているのは、その一つ前に表記された遺伝型に優性的に支配されていることを示し、いずれの遺伝型でも用いることができることを意味する。更にまた、“--”と表記されているのは、いずれの遺伝型も用いることができることを意味する。

$D p n$ 型の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (*malvidin*, *Mv*) とペチュニジン (*petunidin*, *Pt*) を含む場合があるが、これらは、いずれも $D p n$ 型の色素表現型に包含される。更に、 $C y n$ 型の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (*peonidin*, *Pn*) を含む場合があるが、これは $C y n$ 型の色素表現型に包含される。

【0034】

本発明において、例えば、ツツジおよびシャクナゲ花卉の色素遺伝型について、 $H^T H^T p g p g C y C y D p D p$ で $C y n$ 型を得ることができる。 $H^T H^F p g p g C y C y D p D p$ 、 $H^T H^O p g p g C y C y D p D p$ 、 $H^O H^O p g p g C y C y D p D p$ 、で $C y n D p n$ 型を得ることができる。 $H^F H^F p g p g C y C y D p D p$ で白花を得ることができる。ここで「白花」とは、アントシアニジンを全く含まない花のことを指す。なお、本発明では、 $P g n D p n$ 型は得られない。ツツジ花卉の色素遺伝型の特徴として、 $P g n$ 色素の生合成に関与するジヒドロフラボノールリダクターゼ (*DFR*)、あるいはアントシアニンシンターゼ (*LDOX*または*AS*) の発現に関する遺伝子座が劣性のホモ型 ($p g p g$) になっているために、 $P g n$ 色素が生成されない。

$D p n$ 型の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (*malvidin*, *Mv*) とペチュニジン (*petunidin*, *Pt*) を含む場合があるが、これらは、いずれも $D p n$ 型の色素表現型に包含される。更に、 $C y n$ 型の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (*peonidin*, *Pn*) を含む場合があるが、これらは $C y n$ 型の色素表現型に包含され

る。

【0035】

本発明の花色遺伝型交配法は、花きの花卉または萼片、花被、苞、果皮などの有色部分から、50%酢酸水溶液、または50%酢酸メタノールを用いてアントシアニンを抽出し（酢酸の濃度は10～50%でも可能で、酢酸の代わりに0.5～2規定塩酸を用いても良い）、これを塩酸加水分解して、アントシアニジンを含む加水分解物を高速液体クロマトグラフィー（High Performance Liquid Chromatography、HPLC）などを用いて各種アントシアニジンを分析する。自殖や交雑を繰り返して得られた後代の遺伝型について、優性ホモ型、優性ヘテロ型、劣性ホモ型を決定し、各花色をその遺伝型より様々な花色を自由自在に作出することのできる交配方法である。

【0036】

【実施例】

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明は、これらの実施例に限定されるものではない。

【実施例1】

花きの花卉、果皮、葉を採集し、花卉および萼片等については、全色系または覆輪系（八重花を含む）の花卉の着色した部分を切除し、精秤後、試験管中にて0.5～2規定塩酸水溶液（0.5～2N HCl）を加え、アントシアニン色素を抽出した。抽出液を綿栓濾過後、濾液について95～100℃で加熱し加水分解を行い、1～6種のアントシアニジンを含む溶液を得た。反応後、溶液をメンブランフィルターで濾過後、濾液についてHPLC装置にて分析した。

【0037】

HPLCの分析条件および分析装置は、文献記載の方法（Uddin、et al. : J. Japan. Soc. Hort. Sci.、71:40-47、2002）を用いた。

【0038】

HPLCクロマトチャートから、3種のアントシアニジン、すなわち、それぞれのアントシアニジンのピークを占有面積として算出し、ペラルゴニジン（P

gn)、シアニジン(Cyn)、デルフィニジン(Dpn)の全ピーク面積を100%とした。また、ペオニジン(Pn)、ペチュニジン(Pt)およびマルヴァイジン(Mv)を含む場合は、これらのピーク面積をPgn、Cyn、Dpnへ含めて、全ピーク面積を100%とした。得られたピークからアントシアニンについて、その花の色素遺伝型を同定した。

【0039】

花きの花弁、果皮、葉を採集し、花弁および萼片等については、全色系または覆輪系(いずれも八重花を含む)の花弁の着色した部分を切除し、色彩計を用いて花色を測定した。表色系は、CIELab表色系を用い、測定条件および測定装置は、文献記載の方法(Wang, et al.: J. Plant Res., 114:33-43, 2001)を用いた。

【0040】

[実施例2]

トルコギキョウ(リンドウ科)のロイヤルバイオレット(CynDpn色素表現型)、ミッキーローズ(PgnCynDpn色素表現型)、および、あすかの紅(PgnCyn色素表現型)の3品種(F₁世代)を用いて、自殖によるF₂世代の分離を調べ、その結果を表1に示した。また同様に、ロイヤルバイオレット(CynDpn色素表現型)、ミッキーローズ(PgnCynDpn色素表現型)、およびあすかの紅(PgnCyn色素表現型)の3品種(F₁世代)を用いて、2品種間の正逆交雑によるF₁世代の分離を調べ、その結果を表2に示した。その結果、ロイヤルバイオレット(CynDpn色素表現型)、ミッキーローズ(PgnCynDpn色素表現型)、および、あすかの紅(PgnCyn色素表現型)の、色素遺伝型を決定した。

【0041】

【表 1】

F ₂ アントシアニジンの色素表現型	観察値	F ₂ 世代の遺伝型	期待値 (分離比)	χ ² -検定値 *P<0.05	適合値
ミッキーローズ(dd ⁻ eeH ^T H ^F P _g P _g CyCyDpDp色素遺伝型)(F ₁)の自殖による分離、合計180個体					
PgnCynDpn	62	dd ⁻ eeH ^T H ^F P _g -CyCyDpDp	6	11.887	0.036
PgnCyn	28	dd ⁻ eeH ^T H ^T P _g -CyCyDpDp	3		
CynDpn	15	dd ⁻ eeH ^T H ^F P _g P _g CyCyDpDp	2		
Pgn	19	dd ⁻ eeH ^F H ^F P _g -CyCyDpDp	3		
Cyn	3	dd ⁻ eeH ^T H ^T P _g P _g CyCyDpDp	1		
none	3	dd ⁻ eeH ^F H ^F P _g P _g CyCyDpDp	1		
ロイヤルバイオレット(dd ⁻ eeH ^O H ^D P _g P _g CyCyDpDp色素遺伝型)(F ₁)の自殖による分離、合計168個体					
CynDpn	138	dd ⁻ eeH ^O -P _g P _g CyCyDpDp	3	0.164*	0.898
Dpn	45	dd ⁻ eeH ^D H ^D P _g P _g CyCyDpDp	1		
あすかの紅(dd ⁻ eeH ^T H ^T P _g P _g CyCyDpDp色素遺伝型)(F ₁)の自殖による分離、合計142個体					
PgnCyn	142	dd ⁻ eeH ^T H ^T P _g P _g CyCyDpDp	1	-	1.000

【0042】

【表 2】

F ₁ アントシアニジンの色素表現型	観察値	F ₁ 世代の色素遺伝型	期待値 (分離比)	χ^2 -検定値 *P<0.05	適合値
ミッキーローズ(dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^FPgPgCyCyDpDp$)とロイヤルバイオレット(dd $\overline{d}e\overline{e}H^OH^DPgPgCyCyDpDp$)の正逆交雑、計160個体					
PgnCynDpn	52	dd $\overline{d}e\overline{e}H^O-Pg-CyCyDpDp$ と dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^DPg-CyCyDpDp$	3	1.842*	0.398
CynDpn	63	dd $\overline{d}e\overline{e}H^O-PgPgCyCyDpDp$ と dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^DPgPgCyCyDpDp$	3		
Dpn	45	dd $\overline{d}e\overline{e}H^DH^F-CyCyDpDp$	2		
ロイヤルバイオレット(dd $\overline{d}e\overline{e}H^OH^DPgPgCyCyDpDp$)とあすかの紅(dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^TPgPgCyCyDpDp$)の正逆交雑、計137個体					
PgnCynDpn	137	dd $\overline{d}e\overline{e}H^OH^TPgPgCyCyDpDp$ と dd $\overline{d}e\overline{e}H^DH^TPgPgCyCyDpDp$	1	-	1.000
あすかの紅(dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^TPgPgCyCyDpDp$)とミッキーローズ(dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^FPgPgCyCyDpDp$)の正逆交雑、計208個体					
PgnCynDpn	103	dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^FPg-CyCyDpDp$	1	0.019*	0.890
PgnCyn	105	dd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^TPg-CyCyDpDp$	1		

【0043】

表1および表2から、ロイヤルバイオレットはdd $\overline{d}e\overline{e}H^OH^DPgPgCyCyDpDp$ の色素遺伝型であり、ミッキーローズはdd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^FPgPgCyCyDpDp$ の色素遺伝型であり、あすかの紅はdd $\overline{d}e\overline{e}H^TH^TPgPgCyCyDpDp$ の色素遺伝型であることを明らかにした。また、花色は、ロイ

ヤルバイオレットは紫色、ミッキーローズは赤紫色、あすかの紅は赤色であった。なお、表1中none色素表現型は、白花を示す。

【0044】

【実施例3】

トルコギキョウの表3に示すF₂世代またはF₃世代を親株として、これらを自殖し、分離したF₃世代またはF₄世代を調べ、各種F₂系統とF₃系統の色素遺伝型を決定した。その結果を表3に示した。

【0045】

【表3】

アントシアニジンの 色素表現型	観察値	色素遺伝型	期待値 (分離比)	χ^2 -検定値 *P<0.05	適合値
G2D3B27E (ddeeH ^T H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂) の自殖による後代の分離					
CynDpn	22	ddeeH ^T H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp	2	1.811*	0.404
Cyn	9	ddeeH ^T H ^T P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1		
none	6	ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1		
G2D3B29A (ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
Pgn	24	ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp	3	0.771*	0.580
none	11	ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1		
G2D3B25F (ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
Pgn	76	ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1	-	1.000
G2D3B27Y (ddeeH ^T H ^T P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂) の自殖による後代の分離					
Cyn	12	ddeeH ^T H ^T P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1	-	1.000
G2D3B26B (ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
none	31	ddeeH ^F H ^F P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1	-	1.000
J5A2H16B (ddeeH ^O H ^O P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
CynDpn	22	ddeeH ^O H ^O P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1	-	1.000
J5A2H13CE (ddeeH ^O H ^D P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
CynDpn	39	ddeeH ^O P ₂ P ₂ CyCyD pDp	3	0.491*	0.484
Dpn	16	ddeeH ^D H ^D P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1		
J5A2H110C1A (ddeeH ^D H ^D P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
Dpn	24	ddeeH ^D H ^D P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1	-	1.000
W1C3B111Y (ddeeH ^T H ^T P ₂ P ₂ CyCyD pDp)系統 (F ₂ およびF ₃) の自殖による後代の分離					
PgnCyn	56	ddeeH ^T H ^T P ₂ P ₂ CyCyD pDp	1	-	1.000

【0046】

表3から分かるように、 $dd ee H^F H^F P g P g C y C y D p D p$ 色素遺伝型から $P g n$ 色素のみを有する色素表現型として、 $G 2 D 3 B 2 5 F$ 系統（白色、白赤色、クリーム色、またはピンク色の花）を得た。 $dd ee H^T H^T p g p g C y C y D p D p$ 色素遺伝型から $C y n$ 色素のみを有する色素表現型として、 $G 2 D 3 B 2 7 Y$ 系統（白赤色、またはピンク色の花）を得た。 $dd ee H^F H^F p g p g C y C y D p D p$ 色素遺伝型から色素を全く有しない $n o n e$ 型として、 $G 2 D 3 B 2 6 B$ 系統（白花）を得た。 $dd ee H^O H^O p g p g C y C y D p D p$ 色素遺伝型から $C y n D p n$ 色素を有する色素表現型として、 $J 5 A 2 H 1 6 B$ 系統（赤紫色の花）を得た。 $dd ee H^D H^D p g p g C y C y D p D p$ 色素遺伝型から $D p n$ 色素のみを有する色素表現型として、 $J 5 A 2 H 1 1 0 C 1 A$ 系統（紫色の花）を得た。 $dd ee H^T H^T P g P g C y C y D p D p$ 色素遺伝型から $P g n C y n$ 色素を有する色素表現型として、 $W 1 C 3 B 1 1 1 Y$ 系統（赤色の花）を得た。これらは、いずれも純系（優性または劣性のホモ型）であることは明らかである。

【0047】

[実施例4]

トルコギキョウの品種、ブライダルバイオレット（覆輪花、 F_1 系統）を自殖し、その花色分離を調査した。その結果、表4に示すように、全て覆輪の優性型として後代が得られ、色素遺伝型と花色を帰属した。

【0048】

【表4】

系統名	個体数	アントシアニン色素の組成			色素遺伝型	CIELab表色系による花色		
		Pg (%)	Cy (%)	Dp (%)		L*	C*	h
F3I1A2D1 (F ₁) の自殖 (χ ² 検定値, 1.536; 適合値, 0.674)								
F3I1A2D1A	40	-	5.8	94.8	ddEEH ^Z H ^F Pg - CyCyDpDp	35.0	54.4	-28.1
F3I1A2D1B	11	-	-	100	ddEEH ^Z H ^Z Pg - CyCyDpDp	35.3	51.4	-28.2
F3I1A2D1C	9	100	-	-	ddEEH ^F H ^F Pg - CyCyDpDp	74.6	18.4	13.7
F3I1A2D1D	3	-	-	-	ddEEH ^F H ^F pgpgCyCyDpDp	82.7	9.3	91.7

【0049】

[実施例5]

トルコギキョウのG4I5A3I1F4 (CynDpn色素型、赤紫色の花)、A1C3B1B3I4 (Pg nCyn色素型、赤色の花)、G2D3B2I5C33 (Pg nCyn色素型、赤色の花)、G2D3B2I5C3A (Cyn色素型、赤色の花)、I5A2I1I3F12 (Dpn色素型、紫赤色の花)、G2D3B2I5C36 (Pg n色素型、白黄色の花)、G2D3B2I5C37 (none色素型、白花)の7系統について、自殖による後代180個体の分離を調べ、その結果を表5に示した。

【0050】

【表5】

系統名	個体数	アントシアニン色素の組成			色素遺伝型	CIELab表色系による花色		
		Pg (%)	Cy (%)	Dp (%)		L*	C*	h
G4I5A3I1F4	34	-	66.9	30.8	ddesH ^O H ^O pgpgCyCyDpDp	64.0	34.6	-31.0
A1C3B1B3I4	96	92.1	7.7	-	ddesH ^T H ^T PgPgCyCyDpDp	40.6	56.4	-4.7
G2D3B2I5C33	8	98.4	1.6	-	ddesH ^T H ^T PgPgCyCyDpDp	60.6	29.4	-4.3
G2D3B2I5C3A	1	-	100	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	46.4	48.2	-10.7
I5A2I1I3F12	13	-	-	100	ddesH ^D H ^D pgpgCyCyDpDp	25.1	77.7	-28.8
G2D3B2I5C36	23	100	-	-	ddesH ^F H ^F PgPgCyCyDpDp	86.4	6.5	88.3
G2D3B2I5C37	5	-	-	-	ddesH ^F H ^F pgpgCyCyDpDp	87.0	10.7	114.2

【0051】

表5のように、それぞれの系統は親株と同一の色素組成、色素遺伝型、花色であった。なお、各系統の個体数を除いた各数値は、系統毎の個体数に対する平均値である。色素遺伝型は、いずれもホモ型であった。G4I5A3I1F4とI5A2I1I3F12の2系統は、色素組成と遺伝型が違っても関わらず、色相角(h)は、-31.0と-28.8度で同様な値を示し、その花色は赤紫色方向の色であった。A1C3B1B3I4とG2D3B2I5C33の2系統は、系統が違ったにも関わらず、同様な色相角(-4.7と-4.3度)を与え、その花色は、赤色方向の色であった。しかし、A1C3B1B3I4系統は、鮮やかさを示すC*の値がG2D3B2I5C33系統に比べ、ほぼ2倍の56.4の値を与え、濃い赤色の花であった。

一方、G2D3B2I5C33系統は淡い赤色の花であった。G2D3B2I5

C36 (Pgn色素型)の色相角は、88.3度を示し、黄色方向の色であった。このC*の値は6.5と低い値を示し、鮮やかさは小さい値であった。したがって、花卉にアントシアニン色素が含まれているにも関わらず、肉眼ではクリーム色の花として確認された。白花であるG2D3B2I5C37系統の色相角は114.2度を与え、黄緑色方向の色であった。このC*の値は10.7と低い値を示したため、肉眼では、非常に白色の花に近い、しかし、淡い黄緑色の花として確認された。

【0052】

[実施例6]

トルコギキョウのG2D3B2I5C31 (PgnCynDpn色素表現型、赤紫色の花)、G2D3B2I5C32 (PgnCynDpn色素表現型、赤色の花)、G2D3B2I5C34 (PgnCyn色素表現型、赤橙色の花)、G2D3B2I5C35 (Pgn色素表現型、白赤色の花)、G2D3B2I5C38 (CynDpn色素表現型、白色の花)、G2D3B2I5C39 (CynDpn色素表現型、赤紫色の花)、I5A21I3F11 (CynDpn色素表現型、紫赤色の花)、A1C3B1B3IMA (PgnCynDpn色素表現型、赤紫色の花)、A1C3B1B3IMB (PgnCyn色素表現型、赤色の花)、I5A21I3FMA (PgnCynDpn色素表現型、紫色の花)、I5A21I3FMB (CynDpn色素表現型、紫色の花)、I5A21I3FMC (Dpn色素表現型、紫色の花)の12系統298個体について、色素組成、色素遺伝型、花色を調べ、その結果を表6に示した。

【0053】

【表 6】

系統名	個体数	アントシアニン色素の組成			色素遺伝型	CIELab表色系による花色		
		Pg (%)	Cy (%)	Dp (%)		L*	C*	a
G2D3B2I5C31	32	26.0	67.8	3.9	ddesH ^T H ^F Pg - CyCyDpDp	51.8	37.8	-18.7
G2D3B2I5C32	5	20.5	72.5	2.6	ddesH ^T H ^F Pg - CyCyDpDp	78.8	6.5	28.6
G2D3B2I5C34	9	34.7	64.1	-	ddesH ^T H ^T Pg - CyCyDpDp	80.4	7.8	55.8
G2D3B2I5C35	4	100	-	-	ddesH ^F H ^F Pg - CyCyDpDp	63.3	33.5	4.4
G2D3B2I5C38	4	-	82.3	15.6	ddesH ^T H ^F pgpgCyCyDpDp	84.6	8.5	97.5
G2D3B2I5C39	7	-	79.7	17.7	ddesH ^T H ^F pgpgCyCyDpDp	54.0	34.6	-22.1
ISA2H1I3F11	31	-	7.6	90.7	ddesH ^O H ^D pgpgCyCyDpDp と ddesH ^O H ^O pgpgCyCyDpDp	25.0	76.3	-38.0
A1C3B1B3IMA	46	38.2	67.3	2.8	ddesH ^T H ^F Pg - CyCyDpDp	53.5	45.4	-18.4
A1C3B1B3IMB	46	88.6	11.4	-	ddesH ^T H ^T Pg - CyCyDpDp	66.7	32.5	-8.0
ISA2H1I3FMA	42	13	11.7	85.5	ddesH ^T H ^D Pg - CyCyDpDp と ddesH ^O H ^X Pg - CyCyDpDp	30.0	75.2	-32.0
ISA2H1I3FMB	43	-	8.4	90.5	ddesH ^T H ^D pgpgCyCyDpDp と ddesH ^O H ^X pgpgCyCyDpDp	30.3	75.2	-32.5
ISA2H1I3FMC	39	-	-	100	ddesH ^D H ^F - - CyCyDpDp	32.4	71.6	-34.0

【0054】

表6のように、それぞれの系統の色素遺伝型は、いずれもヘテロ型であった。なお、各系統の個体数を除いた各数値は、系統毎の個体数に対する平均値である。G2D3B2I5C31 (Pg n Cy n Dp n 色素型、赤紫色の花)、A1C3B1B3IMA (Pg n Cy n Dp n 色素型、赤紫色の花) の2系統のアントシアニン色素組成、花色は、共に同様の値を示し、色素遺伝型は同じであった。一方、G2D3B2I5C32 (Pg n Cy n Dp n 色素型、赤色の花) の系統は、G2D3B2I5C31、A1C3B1B3IMA系統と同様な色素遺伝型と色素組成を示したにも関わらず、色相角が28.6度を与え、赤橙色の方向の色を示した。しかし、このC*の値は6.5と低い値であったことから、肉眼による花色は薄い赤色がかった白色の花であった。Pg n Cy n 色素型を有するG2D3B2I5C34とA1C3B1B3IMBの2系統は同一の色素遺伝型を有していたが、色素組成と花色は全く異なっていた。すなわち、G2D3B2I5C34は色相角が55.8度で橙色方向の色(肉眼では白色に近いオレンジ色の花)を示したのに対して、A1C3B1B3IMBは色相角が-8.0度の

赤色方向の色（肉眼では赤色の花）であった。CynDpn色素型を有するG2D3B2I5C38とG2D3B2I5C39の2系統は同一の色素遺伝型を有していたが、色素組成と花色は全く異なっていた。すなわち、G2D3B2I5C38は色相角が97.5度で黄色方向の色（肉眼では白色に近い黄色の花）を示したのに対して、G2D3B2I5C39は色相角が-22.1度の赤色方向の色（肉眼では赤色の花）であった。HO、またはHDの複対立遺伝子を含むI5A2H1I3F11、I5A2H1I3FMA、I5A2H1I3FMB、I5A2H1I3FMCの4系統は、いずれも色相角が-20度を下回り、紫赤色方向の色を示し、肉眼では紫色の花であった。

【0055】

[実施例7]

以下、トルコギキョウF₁種子の交配作出法を具体的に説明する。

Cyn色素表現型の一重全色ピンク色の花（dde eHTHTpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ホモ型）とPgn色素表現型の一重全色白色の花（dde eHFHFpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ホモ型）を交配し、PgnCynDpn色素表現型の一重全色赤紫色の花（dde eHTHFpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ヘテロ型）を得た。

【0056】

CynDpn色素表現型の一重全色赤紫色の花（dde eHOHOpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ホモ型）とPgn色素表現型の一重全色白色の花（dde eHFHFpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ホモ型）を交配し、PgnCynDpn色素表現型の一重全色赤紫中間色の花（dde eHOHFpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ヘテロ型）を得た。

【0057】

PgnCyn色素表現型の一重全色赤色の花（dde eHTHTpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ホモ型）とPgn色素表現型の一重全色白色の花（dde eHFHFpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ホモ型）を交配し、PgnCynDpn色素表現型の一重全色ピンク中間色の花（dde eHTHFpgpgCyCyDpDp色素遺伝型、ヘテロ型）を得た。

【0058】

トルコギキョウのG2D3B2I5C36 (Pgn色素表現型、dde eHF^HPFpPgCyCyDpDp色素遺伝型、白黄色の花) とG4I5A3I1F4 (CynDpn色素表現型、dde eH^OH^Op p p gCyCyDpDp色素遺伝型、赤紫色の花) (表5) を用いて正逆交雑することにより、より赤い花を作出する計画により交配を行った。この交配より、F₁種子の花としてG2D3G4I5系統(16個体)を得た。この色素表現型は全て、PgnCynDpn色素表現型(Pg24.7%、Cy72.4%、Dp2.9%)で、dde eH^OH^FPFp p gCyCyDpDpの色素遺伝型であった。また、花色は肉眼では赤紫色であった。花色は、色相角(h)が-18.5度で赤紫色方向の色であった。明度L*値は61.9の値でG4I5A3I1F4系統と同様に花色は明るく、彩度C*値は40.7の値で、やや鮮やかな赤紫色の花であった。したがって、G4I5A3I1F4系統にはないPgn色素表現型をG2D3B2I5C36系統を用いて、それにPgn色素を組みことができ、G4I5A3I1F4系統よりも、より赤い花を計画の通り作出することができた。

【0059】

[実施例8]

トルコギキョウのPgnCyn色素表現型のA1C3B1B3I系統(色素遺伝型はdde eH^TH^TPFpPgCyCyDpDp) とCynDpn色素表現型I5A2H1I3F系統(色素遺伝型はdde eH^OH^Dp p p gCyCyDpDp)を用いて、正逆交雑による後代の分離を調べ、その結果を表7に示した。その結果、A1C3B1B3I系統を種子親、I5A2H1I3F系統を花粉親として交配した場合、A1C3B1B3IRA系統とA1C3B1B3IRB系統を1:1の分離比で得、これらの色素遺伝型と花色を決定した。A1C3B1B3IRA系統はPgn色素を主体とし、色相角は-8.0度を与え、花色は赤色方向の色であった。彩度を示すC*値が33.3で、淡い赤色の花であった。また、A1C3B1B3IRB系統はCyn色素を主体とし、色相角は-18.9度を与え、花色は赤色の紫がかかる方向の色であった。彩度を示すC*値が47.1で、赤色の花であった。

一方、I5A2H1I3F系統を種子親、A1C3B1B3I系統を花粉親として交配した場合、I5A2H1I3FAS系統を79個体得、その色素遺伝型と花色を決定した。色相角は-30.2度を与え、花色は紫赤色方向の色であった。

【0060】

【表7】

系統名	個体数	葉外液ニジン色素の組成			色素遺伝型	CIELab表色系による花色		
		Pg (%)	Cy (%)	Dp (%)		L*	C*	h
A1C3B1B3I	1	95.0	5.0	-	dd ^{ee} H ^T H ^T P _g P _g CyCyDpDp	65.2	29.5	-5.3
I5A2H1I3F	1	-	4.0	96.0	dd ^{ee} H ^O H ^D P _g P _g CyCyDpDp	34.6	75.7	-29.4

A1C3B1B3I (種子親) × I5A2H1I3F (花粉親)								
A1C3B1B3IRA	29	91.6	6.0	2.4	dd ^{ee} H ^T H ^D P _g P _g CyCyDpDp	65.8	33.3	-8.0
A1C3B1B3IRB	29	33.3	64.6	2.1	dd ^{ee} H ^T H ^O P _g P _g CyCyDpDp	52.2	47.1	-18.9

I5A2H1I3F (種子親) × A1C3B1B3I (花粉親)								
I5A2H1I3FAS	79	0.5	9.6	89.8	dd ^{ee} H ^D H ^T P _g P _g CyCyDpDp と dd ^{ee} H ^O H ^T P _g P _g CyCyDpDp	27.4	76.3	-30.2

【0061】

表7の結果から、A1C3B1B3I系統とI5A2H1I3F系統の間には、色素が核遺伝する他に、細胞質遺伝（特に、母性遺伝）による花色遺伝があることを明らかにした。この遺伝を利用することにより、色素の核遺伝型を損なうことなく、母親株に近い花色を出すことができた。

【0062】

[実施例9]

トルコギキョウのA4B3F2K2 (F₂、八重花)、G2D3B2I59A (F₃)、G4H5G2D39A (F₂)の各系統を自殖した結果を表8に示す。A4B3F2K2 (F₂)系統は、色素遺伝型はホモ型であり、花色はほぼ3:1で分離した。G2D3B2I59A (F₃)系統とG4H5G2D39A (F₂)からは、色素遺伝型に従い、花色が分離した。この結果、A4B3F2K2 (F₂)の自殖系統のように、同一の遺伝型からも違った花色が分離すること

を明らかにした。

【0063】

【表 8】

系統名	個体数	アントシアニン色素の組成			色素遺伝型	CIELab表色系による花色		
		Pg (%)	Cy (%)	Dp (%)		L*	C*	a
A4B3F2K2 (F ₂) の自殖 (χ^2 検定値, 2.564; 適合値, 0.109)								
A4B3F2K21	34	100	-	-	DDeeH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	68.7	33.6	-6.2
A4B3F2K22	18	100	-	-	DDeeH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	88.8	7.1	104.5
G2D3B2I59A (F ₂) の自殖 (χ^2 検定値, 0.961; 適合値, 0.327)								
G2D3B2I59A1	11	100	-	-	ddeeH ^F H ^F Pg - CyCyDpDp	88.1	8.1	98.4
G2D3B2I59A2	6	-	-	-	ddeeH ^F H ^F pgpgCyCyDpDp	89.3	8.6	105.2
G4H5G2D39A (F ₂) の自殖 (χ^2 検定値, 12.18; 適合値, 0.0005)								
G4H5G2D39A1	10	18.3	75.2	6.5	ddeeH ^O H ^O Pg - CyCyDpDp	63.0	39.4	-20.1
G4H5G2D39A2	13	-	84.6	16.6	ddeeH ^O H ^O pgpgCyCyDpDp	71.8	28.3	-26.2

【0064】

[実施例 10]

八重花（多弁花）のトルコギキョウを自殖し、八重花と一重花が49個体：24個体で分離した。その結果、八重花の遺伝子型が、D/dで有ることを明らかにした。D/dは英語の八重花（double flower）の頭文字を取り、それぞれ優性型／劣性型を示す。表記方法は他の頭文字を取っても、同一である。従って、DDとDd遺伝子型では八重花が得られ、dd遺伝子型では一重の花が得られた。八重花には、バラ咲き（rose）八重花とフリル咲き（frill）八重花があり、遺伝型D_r/dおよびD_f/dでそれぞれが得られた。

【0065】

[実施例 11]

覆輪花（花弁の先端のみが着色した花）のトルコギキョウを自殖し、覆輪花と全色花（花弁全てが着色した花）が77個体：28個体（3：1）で分離した。その結果、覆輪の遺伝子型が、E/eで有ることを明らかにした。E/eは英語の覆輪花（edge colored）の頭文字を取り、それぞれ優性型／劣性型を示す。表記方法は他の頭文字を取っても、同一である。従って、EEとEe

遺伝子型では覆輪花が得られ、*e e* 遺伝子型では全色の花が得られた。

【0066】

【実施例 12】

スイートピー（マメ科）花卉色素の分析を行い、各品種系統の花弁色素遺伝型を調べた。その結果、表 9 に示すように、各品種系統の花弁色素遺伝型を明らかにした。*D p n* の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (*malvidin*, *Mv*) とペチュニジン (*petunidin*, *Pt*) を含み、これらは、いずれも *D p n* を生成する色素遺伝型に包含される。更に、*C y n* の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (*peonidin*, *Pn*) を含み、*C y n* を生成する色素遺伝型に包含される。

【0067】

【表 9】

系統	個体数	アントシアニン色素の組成						色素遺伝型
		Pg (%)	Cy (%)	Pn (%)	Dp (%)	Pt (%)	Mv (%)	
紫色系品種	5	-	-	-	5.0	18.4	76.6	<i>ddccH^DH^D - - CyCyDpDp</i>
青紫系品種	7	-	4.4	1.4	24.9	21.9	47.4	<i>ddccH^TH^D ppgCyCyDpDp</i>
赤色系品種	8	-	44.8	55.2	-	-	-	<i>ddccH^TH^T ppgCyCyDpDp</i>
淡赤色系品種	17	54.6	20.2	25.0	-	-	-	<i>ddccH^TH^T Pg - CyCyDpDp</i>
白色系品種	9	-	-	-	-	-	-	<i>ddccH^FH^F ppgCyCyDpDp</i>

【0068】

【実施例 13】

シャクナゲ（ツツジ科）花卉の色素の分析を行い、各品種系統の花弁色素遺伝型を調べた。その結果、表 10 に示すように、各品種系統の花弁色素遺伝型を明らかにした。*D p n* の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (*malvidin*, *Mv*) とペチュニジン (*petunidin*, *Pt*) を含み、これらは、いずれも *D p n* を生成する色素遺伝型に包含される。更に、*C y n* の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (*peonidin*, *Pn*) を含み、*C y n* を生成する色素遺伝型に包含される。

【0069】

【表 10】

系統	個体数	アントシアニン色素の組成						色素遺伝型
		Pg (%)	Cy (%)	Pn (%)	Dp (%)	Pt (%)	Mv (%)	
紫色系品種	15	-	51.1	9.6	13.5	3.3	22.9	ddesH ^O H ^O pgpgCyCyDpDp
赤色系品種	15	-	98.1	1.9	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp

【0070】

【実施例 14】

ツツジ（ツツジ科）花卉の色素の分析を行い、各品種の花弁色素遺伝型を調べた。その結果、表 11 に示すように、各品種系統の花弁色素遺伝型と花色を明らかにした。Dpn の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (malvidin、Mv) とペチュニジン (petunidin、Pt) を含む場合があり、これらは、いずれも Dpn を生成する色素遺伝型に包含される。更に、Cyn の色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (peonidin、Pn) を含む場合があり、Cyn を生成する色素遺伝型に包含される。

【0071】

【表 11】

品種名	アントシアニン色素の組成 (%)						色素遺伝型	花色 (CIELab 表色)		
	Pg	Cy	Pn	Dp	Pt	Mv		L*	C*	h
キンモウツツジ	-	90.3	9.7	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	54.9	60.7	37.5
ヒラドツツジ曙	-	53.0	10.6	28.5	+	7.9	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	74.8	51.0	-15.7
ヒラドツツジ御代の栄	-	87.7	12.3	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	74.4	38.2	-13.0
ヒラドツツジ朱赤	-	100	-	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	55.1	62.0	18.5
ヒラドツツジ大紫	-	27.0	16.0	12.5	5.7	38.8	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	54.7	59.6	-23.2
ヒラドツツジ白妙	-	68.6	-	31.4	-	-	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	90.8	4.7	103.4

【0072】

【実施例 15】

キンモウツツジを種子親に、ヒラドツツジを花粉親として交配を行い、F1 ツツジを作出し、それらの花弁色素の分析を行い、各雑種の色素遺伝型と花色遺伝

を調べた。その結果、表12に示すように、各雑種個体群における色素遺伝型と花色を明らかにした。Dpnの色素表現型にはメチル化アントシアニンであるマルヴィジン (malvidin、Mv) とペチュニジン (petunidin、Pt) を含む場合があり、これらは、いずれもDpnを生成する色素遺伝型に包含される。更に、Cynの色素表現型にはメチル化アントシアニンであるペオニジン (peonidin、Pn) を含む場合があり、Cynを生成する色素遺伝型に包含される。

【0073】

【表12】

系統名	個体数	アントシアニン色素の組成 (%)						色素遺伝型	花色 (CIELab表色)		
		Pg	Cy	Pn	Dp	Pt	Mv		L*	C*	a*
キヌカササ (種子親) × ヒトノササ 曙 (花粉親)											
KiAke97MA	8	-	21.9	5.8	27.2	11.1	33.9	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	54.4	55.0	2.7
KiAke97mB	6	-	32.3	-	67.7	-	-	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	54.2	54.0	5.7
KiAke97Ma	12	-	54.9	45.1	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	57.6	57.8	2.2
KiAke97mb	3	-	100	-	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	58.9	55.8	17.1
キヌカササ (種子親) × ヒトノササ 御代の栄 (花粉親)											
KiMiy97M1	33	-	75.4	24.6	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	66.8	43.4	9.8
KiMiy97m2	27	-	100	-	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	81.3	15.5	12.8
キヌカササ (種子親) × ヒトノササ 朱赤 (花粉親)											
KiShu97M1	22	-	68.9	31.1	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	56.1	58.7	17.3
KiShu97m2	4	-	100	-	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	58.1	56.6	18.9
キヌカササ (種子親) × ヒトノササ 大紫 (花粉親)											
KiOom97MA	6	-	22.2	6.4	20.5	11.2	39.8	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	55.9	54.8	-3.5
KiOom97mB	3	-	29.9	-	70.1	-	-	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	57.9	53.6	-0.8
KiOom97Ma	7	-	48.2	51.8	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	58.2	57.6	6.3
KiOom97mb	3	-	100	-	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	61.3	53.6	7.6
キヌカササ (種子親) × ヒトノササ 白妙 (花粉親)											
KiSiu97MA	5	-	27.2	10.0	16.1	10.4	36.3	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	56.8	55.2	-5.2
KiSiu97mB	4	-	33.5	-	66.5	-	-	ddesH ^O H ^T pgpgCyCyDpDp	57.5	52.8	3.5
KiSiu97Ma	4	-	65.9	34.1	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	60.9	53.8	7.6
KiSiu97mb	1	-	100	-	-	-	-	ddesH ^T H ^T pgpgCyCyDpDp	60.2	54.6	15.8

【0074】

【実施例16】

二重咲き花（ホーズインホーズ；h o s e - i n - h o s e）の久留米ツツジと一重花サツキを交配し、二重咲き花雑種と一重花雑種が144個体：123個体（1：1）で分離した。その結果、二重咲き花久留米ツツジおよび二重咲き花雑種の、二重咲き形質に関する遺伝型をD_hd（ヘテロ型）と明らかにし、一重花サツキおよび一重花雑種の遺伝型がd d（劣性ホモ型）で有ることを明らかにした。

【0075】

[実施例17]

ツバキ（ツツジ科）について、花卉色素遺伝型を調べた。その結果、表13に示すように、各品種の花弁色素遺伝型と花色を明らかにした。

【0076】

【表13】

品種名	アントシアニン色素の組成			色素遺伝型	CIELab表色系による花色		
	P _g (%)	C _y (%)	D _p (%)		L*	C*	a
トウツバキ	-	100	-	dd ee H ^T H ^T p _g p _g C _y C _y D _p D _p	64.0	40.4	-0.7
ピタールツバキ	-	100	-	dd ee H ^T H ^T p _g p _g C _y C _y D _p D _p	58.0	52.3	3.1
宛田紅花油茶	-	100	-	dd ee H ^T H ^T p _g p _g C _y C _y D _p D _p	50.3	58.4	11.8
ヤブツバキ 尖閣	-	100	-	dd ee H ^T H ^T p _g p _g C _y C _y D _p D _p	38.6	59.6	10.5
ヤブツバキ 玉の浦	-	100	-	dd ee H ^T H ^T p _g p _g C _y C _y D _p D _p	42.0	60.0	11.6
ホウザンツバキ	-	100	-	dd ee H ^T H ^T p _g p _g C _y C _y D _p D _p	41.2	63.7	13.1

【0077】

[実施例18]

バラ（バラ科）の品種フレンチ шам'について、花卉色素遺伝型を調べた。その結果、アントシアニジンはC_yn色素表現型であり、D- e e H^TH^T p_gp_g C_yC_y D_pD_pの色素遺伝型であることを明らかにした。

【0078】

[実施例19]

デルフィニウム（キンポウゲ科）の品種ブルーミラー'について、花卉色素遺伝型を調べた。その結果、アントシアニジンはD_pn色素表現型であり、d d e e H^DH^D p_gp_g C_yC_y D_pD_pの色素遺伝型であることを明らかにした。

【0079】

[実施例 20]

カーネーション (ナデシコ科) の品種クラレットエレガンス'、サリスローヤレッド'、ソルビックスシドニー'、ミス小倉'、福岡78号'について、花卉色素遺伝型を調べた。その結果、これら品種のアントシアニジンは全て $PgnCyn$ 色素表現型であり、 $D-eeH^TH^TPg-CyCyDpDp$ の色素遺伝型であることを明らかにした。

【0080】

[実施例 21]

グラジオラス (アヤメ科) の品種紅雀'、アーリーレッド'、レッドラジアンズ'、美園'、バンドワゴン'について、花卉色素遺伝型を調べた。その結果、これら品種のアントシアニジンは全て Pgn 色素表現型であり、 $ddeeH^FH^FPg-CyCyDpDp$ の色素遺伝型であることを明らかにした。

【0081】

[実施例 22]

赤色系品種のキク (キク科) について、花卉色素遺伝型を調べた。その結果、本品種のアントシアニジンは Cyn 色素表現型であり、 $ddeeH^TH^TPpgpgCyCyDpDp$ の色素遺伝型であることを明らかにした。

【0082】

[実施例 23]

各複対立遺伝子の組合せ早見表を、表14および表15に示す。行には花粉親の配偶子を示し、列には種子親の配偶子を示す。表14は、 Pg/pg 、 Cy/cy および Dp/dp で示される遺伝子座が $PgPgCyCyDpDp$ または $PpgpgCyCyDpDp$ で表される場合の組合せ表であり、表15は、 Pg/pg 、 Cy/cy および Dp/dp で示される遺伝子座が $pgpgCyCyDpDp$ で表される場合の組合せ表である。例えば、遺伝子座が $PgPgCyCyDpDp$ であり、一つの複対立遺伝子 HO ともう一つの複対立遺伝子 HO が受精し、その組合せが $HOHO$ となった場合は、表14からその色素表現型が $PgnCynDpn$ であることが、この早見表より速やかに明らかにすることができる。

【0083】

【表 14】

PgPgCyCyDpDp または PgapgCyCyDpDp の追伝子座の場合						
♀	♂	HO	HD	HZ	HT	HF
HO	HOHO PgncynDpn	HOHD PgncynDpn	HOHZ PgncynDpn	HOHT PgncynDpn	HOHF PgncynDpn	
HD	HDHO PgncynDpn	HDHD Dpn	HDHZ Dpn	HDHT PgncynDpn	HDHF Dpn	
HZ	HZHO PgncynDpn	HZHD Dpn	HZHZ Dpn	HZHT PgncynDpn	HZHF CynDpn	
HT	HTHO PgncynDpn	HTHD PgncynDpn	HTHZ PgncynDpn	HTHT Pgncyn	HTHF PgncynDpn	
HF	HFHO PgncynDpn	HFHD Dpn	HFHZ CynDpn	HFHT PgncynDpn	HFHF Pgncyn	

【0084】

【表 15】

papeCyCyDpDp の遺伝子座の場合						
♀	♂	HO	HD	HZ	HT	HF
HO	HOHO CynDpn	HOHD CynDpn	HOHZ CynDpn	HOHT CynDpn	HOHF CynDpn	
HD	HDHO CynDpn	HDHD Dpn	HDHZ Dpn	HDHT CynDpn	HDHF Dpn	
HZ	HZHO CynDpn	HZHD Dpn	HZHZ Dpn	HZHT CynDpn	HZHF CynDpn	
HT	HTHO CynDpn	HTHD CynDpn	HTHZ CynDpn	HTHT Cyn	HTHF CynDpn	
HF	HFHO CynDpn	HFHD Dpn	HFHZ CynDpn	HFHT CynDpn	HFHF none	

【0085】

[実施例 24]

色素表現型と色素遺伝型との対応を示す、早見表を表16に示す。例えば、PgnCyn色素型の $H^TH^TPgPgCyCyDpDp$ の色素遺伝型と、白花（none色素型）の $H^FH^FpgpgCyCyDpDp$ の色素遺伝型とを交配すると、 $H^TH^FPgpgCyCyDpDp$ の色素遺伝型を有する F_1 交配種を作出すことができ、その色素表現型がPgnCynDpnであることが、この早見表より速やかに明らかにすることができる。

【0086】

【表16】

色素表現型	色素遺伝型	色素表現型	色素遺伝型
PgnCynDpn	$H^OH^OPgPgCyCyDpDp$	Dpn	$H^DH^DPgPgCyCyDpDp$
	$H^OH^OPgpgCyCyDpDp$		$H^DH^DPgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^DPgPgCyCyDpDp$		$H^DH^DPgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^DPgpgCyCyDpDp$		$H^DH^ZPgPgCyCyDpDp$
	$H^OH^ZPgPgCyCyDpDp$		$H^DH^ZpgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^ZpgpgCyCyDpDp$		$H^DH^ZpgpgCyCyDpDp$
	$H^OHT^PgPgCyCyDpDp$		$H^DH^FPgPgCyCyDpDp$
	$H^OHT^PgpgCyCyDpDp$		$H^DH^FPgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^FPgPgCyCyDpDp$		$H^DH^FPgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^FPgpgCyCyDpDp$		$H^ZH^ZPgPgCyCyDpDp$
	$H^DH^TPgPgCyCyDpDp$		$H^ZH^ZpgpgCyCyDpDp$
	$H^DH^TPgpgCyCyDpDp$		
	$H^ZH^TPgPgCyCyDpDp$		
	$H^ZH^TPgpgCyCyDpDp$		
	$H^TH^FPgPgCyCyDpDp$	PgnCyn	$H^TH^TPgPgCyCyDpDp$
	$H^TH^FPgpgCyCyDpDp$		$H^TH^TPgpgCyCyDpDp$
CynDpn	$H^OH^OPgpgCyCyDpDp$	Cyn	$H^TH^TpgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^DPgpgCyCyDpDp$		
	$H^OH^ZpgpgCyCyDpDp$	Pgn	$H^FH^FPgPgCyCyDpDp$
	$H^OHT^pgpgCyCyDpDp$		$H^FH^FPgpgCyCyDpDp$
	$H^OH^FPgpgCyCyDpDp$	none (white)	
	$H^DH^TpgpgCyCyDpDp$		
	$H^ZH^TpgpgCyCyDpDp$		
	$H^ZH^FPgPgCyCyDpDp$		
	$H^ZH^FPgpgCyCyDpDp$		
	$H^ZH^FPgpgCyCyDpDp$		
	$H^TH^FPgpgCyCyDpDp$		

【0087】

[比較例1]

遺伝子型を想定した方法（非特許文献6、小林加奈：育種学雑誌、48：169-176、1998）を用いて、Pgn型で白赤色の花とCyn型で白赤色の花を正逆交雑したところ、PgnCyn型の赤紫色の花は得られず、その代わりにPgnCynDpn型の赤紫色の花が得られた。非特許文献6の方法を用いた場合には、PgnCynDpn型の赤紫色の花が分離したことは説明が付かない。

【0088】

[比較例2]

遺伝子型を想定した方法（非特許文献6、小林加奈：育種学雑誌、48：169-176、1998）を用いて、PgnCyn型で赤色の花と白花を正逆交雑したところ、PgnCyn型で赤色の花は得られず、その代わりにPgnCynDpn型の赤紫色の花が得られた。非特許文献6の方法を用いた場合には、PgnCynDpn型の赤紫色の花が分離したことは説明が付かない。

【0089】

これらの実施例から、本発明の遺伝型 $H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y / c y \cdot D p / d p$ または遺伝型 $D / d \cdot E / e \cdot H^X H^X \cdot P g / p g \cdot C y / c y \cdot D p / d p$ でPgn、Cyn、Dpnの色素型を帰属した花色および／または花形育種法が優れた花色遺伝型交配法であることは明らかである。

【0090】

【発明の効果】

花色自体の遺伝子型育種法では後代花色の分離に曖昧なところが多く、実用化することに沢山の問題点を残した。また、非特許文献6に記載のある、 E_1 / e_1 および E_2 / e_2 で表されたゼラニウム花色素の遺伝についても、後代の分離比に疑問点があり、実用化には至らなかった。特許文献においては、遺伝子組み替え、照射などによる突然変異を起こさなければ、新花色を作出することができないという問題がある。さらに、遺伝した個体がどのような花色を有するか予測することが困難であって、その花色も肉眼による曖昧な色であり、問題がある。

また、トルコギキョウではできたもののすべての花きに適用できるかどうか、C I E L a b 表色系などを用いて花色を正確に測色・数値化し、遺伝させることが十分ではなかったという問題点もある。本発明は、花色素生合成の遺伝を明らかにし、花きの花色をC I E L a b 表色系などを用いて花色を正確に測色・数値化した上で、その色素遺伝型と花色の関係を明らかにし、花きの新花色作出について実用的花色遺伝型交配法を提供するものである。

本発明により、花きの色素遺伝型を明らかにできる。たとえば、遺伝型 $D/d \cdot E/e \cdot H^X H^X \cdot P_g/p_g \cdot C_y/c_y \cdot D_p/d_p$ であって、 P_{gn} 、 C_{yn} 、 D_{pn} の色素表現型を帰属した花色遺伝型交配法を用い、花きの花色をC I E L a b 表色系を用いて正確に測色・数値化することにより、優れた新花色を提供できる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、花色素生合成の遺伝を明らかにし、花きの花色遺伝と色素遺伝型の関係を明らかにし、花きの新花色作出について実用的花色遺伝型交配法を提供するものである。

【解決手段】 本発明の花色遺伝型交配法は、花色遺伝型が経路式 (I) のフラボノイド生合成に関与し、フラボノイド 3' -ヒドロキシラーゼ (F 3' H) やフラボノイド 3' 、5' -ヒドロキシラーゼ (F 3' '、5' H) の遺伝が五つの複対立遺伝子によって制御されているという新しい法則を見出し、結果として、遺伝子組み替え、放射線等照射などによる突然変異を起こさせる方法を用いなくとも、花きの色素遺伝型からその花色を自由に創成できる、遺伝型 $D/d \cdot E/e \cdot H^X H^X \cdot P g/p g \cdot C y/c y \cdot D p/d p$ を用い、新花色を作出する方法である。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-144406
受付番号	50300849031
書類名	特許願
担当官	田口 春良 1617
作成日	平成15年 7月 1日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成15年 5月22日
【特許出願人】	申請人
【識別番号】	302068210
【住所又は居所】	鹿児島県鹿児島市唐湊三丁目 31-1-2-6
【氏名又は名称】	橋本 文雄
【特許出願人】	
【識別番号】	302068209
【住所又は居所】	鹿児島県鹿児島市谷山中央四丁目 4919番地 A 303
【氏名又は名称】	坂田 祐介

特願 2003-144406

出願人履歴情報

識別番号

[302068210]

1. 変更年月日

2002年11月29日

[変更理由]

新規登録

住 所

鹿児島県鹿児島市唐湊三丁目31-1-2-6

氏 名

橋本 文雄

特願 2003-144406

出願人履歴情報

識別番号

[302068209]

1. 変更年月日

2002年11月29日

[変更理由]

新規登録

住所

鹿児島県鹿児島市谷山中央四丁目4919番地A303

氏名

坂田 祐介